

Original Research Paper

**Perbandingan Penggunaan Media Cair Ekstrak Kedelai (*Glycine max*), Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.), dan Kacang Hijau (*Vigna radiata* L) dalam Perbanyakan *Pseudomonas fluorescens* sebagai Agen Hayati**

**Comparison of the Use of Liquid Media of Soybean (*Glycine max*) extract, Peanut (*Arachis hypogaea* L.), and Mung Bean (*Vigna radiata* L.) in the Propagation of *Pseudomonas fluorescens* as Biological Agents**

**Fitria Ningsih<sup>1</sup>, Hefdiyah<sup>2\*</sup>, dan Alief Cahyo Pitoyo<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Mahasiswa Institut Sains dan Teknologi Annuqayah, FMIPA, Prodi Biologi, Sumenep, 69462, Indonesia.

<sup>2</sup>Dosen Universitas Annuqayah, FMIPA, Prodi Biologi, Sumenep, 69462, Indonesia.

<sup>3</sup>UPT Proteksi TPH Jawa Timur, Pamekasan, Indonesia.

\*Corresponding Author: hefdiyah@gmail.com

**Abstract:** *Pseudomonas fluorescens* is one of the antagonist bacteria because it has the ability to induce systemic resistance. *P. fluorescens* has also been reported to increase the content of phenolic compounds in plants. These bacterium are widely used as biological agents for fungi, pathogenic bacteria and viruses in plants. The research method used in this research is the TPC method. The average number of *P. fluorescens* bacterial colonies obtained on each of the soybean, peanut and mung bean extract media was  $1,68 \times 10^8$  CFU/ml,  $4,44 \times 10^8$  CFU/ml and  $6,08 \times 10^8$  CFU/ml. The purpose of this study was to determine which media was more effective against *P. florescens* bacteria in its growth on liquid extracts of soybean, peanut, and mung bean. The results indicate that the most effective media for the growth of *P. fluorescens* bacteria was the liquid media of mung bean extract, with an average total colony count of  $6,08 \times 10^8$  CFU/ml.

**Keywords:** *Biological agents, Pseudomonas fluorescens, liquid media of soybean extract, peanut and mung bean*

Dikumpulkan: 20 April 2024 Direvisi: 21 Mei 2024

Diterima: 25 Juni 2024

Dipublikasi: 30 Juni 2024

## Pendahuluan

Indonesia merupakan negara agraris, dimana mayoritas penduduknya bekerja sebagai petani. Pengendalian hama dan penyakit pada tanaman yang dilakukan oleh petani lebih banyak menggunakan pestisida sintesis. Hal tersebut dapat menimbulkan masalah, seperti meningkatnya resistensi terhadap insektisida kimia, terjadinya ledakan populasi, meningkatnya risiko

keracunan pada hewan ternak maupun manusia, terkontaminasinya air tanah, menurunnya biodiversitas, dan bahaya-bahaya lain yang berkaitan dengan lingkungan (Nurwahida & Trisnani Alif, 2022).

Salah satu teknik yang dapat dilakukan sebagai alternatif untuk mengendalikan serangan patogen yang ramah lingkungan yaitu dengan pemanfaatan agen hayati

menggunakan mikroba. Penggunaan agen hayati dalam pengendalian penyakit pada tanaman memiliki kelebihan diantaranya dapat mengurangi pencemaran lingkungan akibat bahan kimia dari insektisida, tidak merusak keragaman hayati, dan cara penggunaannya yang kompatibel. Selain itu, penggunaan agen hayati perlu dikembangkan dikarenakan harganya yang relatif murah.

*Pseudomonas* spp. adalah kelompok bakteri perakaran yang efektif dalam menekan berbagai penyakit tanaman, diantaranya rebah semai, busuk lunak, layu bakteri, dan penyakit lainnya di berbagai varietas tanaman. Zat antibiotik yang diproduksi oleh *Pseudomonas* spp. (2,4-diacetylphloroglucinol / 2,4-DAPG) yang mampu meningkatkan ketahanan tanah terhadap patogen (Istiqomah & Kusumawati, 2018).

*Pseudomonas fluorescens* kelompok *fluorescens* merupakan bakteri antagonis yang banyak dimanfaatkan sebagai agen hayati baik untuk jamur, virus maupun bakteri patogen pada tanaman. *P. fluorescens* adalah bakteri gram negatif berbentuk batang, merupakan bakteri obligat aerob dan dapat tinggal di berbagai lingkungan termasuk tanaman, tanah, dan permukaan air. (Pratiwi dkk, 2016).

*P. fluorescens* juga dilaporkan dapat meningkatkan kandungan senyawa fenol pada tanaman. *P. fluorescens* merupakan salah satu strain bakteri antagonis yang telah menunjukkan kemampuannya dalam mengendalikan beberapa pertumbuhan patogen tanaman, khususnya patogen tular tanah, baik in vitro, in planta, maupun in vivo. *P. fluorescens* mempunyai sifat "Plant Growth Promoting Rhizobacteria" (PGPR) dan memiliki prospek yang menjanjikan sebagai agen biokontrol karena kelimpahan populasinya secara alami di tanah dan sistem perakaran tanaman, serta menggunakan eksudat tanaman sebagai nutriennya (Probawati dkk, 2020 dan Listiani, 2020).

Perbanyakkan *P. fluorescens* banyak dilakukan dengan menggunakan media agar sintetik. Hal ini membutuhkan banyak biaya apabila media agar sintetik ini menjadi media sebagai perbanyakkan massal. Oleh karena itu, perlu dicari bahan-bahan yang memiliki potensi sebagai media perbanyakkan massal yang cocok untuk *P. fluorescens* yang tersedia melimpah serta mudah didapatkan dengan harga murah. Umumnya media untuk perbanyakkan bakteri harus mengandung sumber nitrogen, karbon, fosfat, sulfur, vitamin dan bahan yang mampu dalam merangsang pertumbuhan bakteri (Nurwahida dan Trisnani Alif, 2022).

Oleh karena itu dalam melakukan penelitian menggunakan beberapa media sebagai perbanyakkan bakteri *P. fluorescens* yaitu media ekstrak cair kedelai, kacang tanah, dan kacang hijau. Kandungan yang terdapat pada air rebusan kedelai yaitu protein 3.2 g, lemak 1.5 g, karbohidrat 3.0 g, vitamin, mineral, energi 36 kkal dan air. (Sari & Rahmawati, 2020 dan Stefia, 2017). Kandungan yang terdapat pada media ekstrak cair kacang tanah yaitu lemak, protein yang tinggi, zat besi, vitamin E, vitamin B kompleks, fosfor, vitamin A, vitamin K, lesitin, kolin, dan kalsium (Zulchi & Husni Puad, 2017). sedangkan media ekstrak cair kacang hijau mengandung protein sebesar 22%, kalori, lemak, karbohidrat, kalsium, zat besi, fosfor, vitamin A, vitamin B, vitamin C, dan air (Hastuti dkk, 2018 dan Hakim dkk, 2021).

Oleh sebab itu, tujuan penulis melakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui media apa yang lebih efektif terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas fluorescens* dengan menggunakan media cair ekstrak kedelai, kacang tanah maupun kacang hijau.

## Bahan dan Metode

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pengamatan Hama dan Penyakit Tanaman

Pangan dan Hortikultura (LPHPTPH) Pamekasan, di Jl. Jalmak Pamekasan No.2, Taman, Laden, Kecamatan Pamekasan, Kabupaten Pamekasan dari tanggal 7 Februari - 8 Maret 2022. Bakteri *Pseudomonas fluorescens* yang digunakan berasal dari koleksi LPHPTPH Pamekasan. *Pseudomonas fluorescens* yang digunakan dalam bentuk isolat pada media kelmans. Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode TPC. Pengamatan yang dilakukan dengan menghitung jumlah koloni bakteri.

### Pembuatan Media Alternatif

Media alternatif yang digunakan adalah ekstrak cair kedelai, ekstrak cair kacang tanah, ekstrak cair kacang hijau. Komposisi masing-masing media yang digunakan yaitu 1/2 kg, 19 L ekstrak cair dari kedelai, kacang tanah, dan kacang hijau, 19 L Air, 50 gram gula, dan 1 sendok makan pepton. Semua bahan dicampur menjadi satu dan dimasukkan kedalam masing-masing galon. Media siap untuk diinokulasi bakteri *Pseudomonas fluorescens*.

### Inokulum Bakteri *Pseudomonas fluorescens*

Bakteri *P. fluorescens* dalam bentuk isolat diinokulasikan dengan cara menggunakan aquades steril. Kemudian menggunakan jarum ose dengan cara dikerok perlahan dan dimasukkan ke dalam galon yang terdapat media ekstrak cair kentang, kacang tanah, kacang hijau. Galon yang sudah dimasukkan bakteri ditutup kemudian diberi aerasi dengan menggunakan aerator dan selang yang dimasukkan ke dalam galon melalui lubang penutup galon. Proses inkubasi dilakukan sampai akhir pengamatan selama 5 hari.

### Pengamatan Jumlah Koloni

Jumlah koloni dihitung dengan cara mengambil 1 ml media cair. Kemudian dilakukan metode pengenceran dengan tingkat pengenceran  $10^{-6}$ . Sebelum melakukan penghitungan jumlah koloni dilakukan pembuatan media tumbuh bakteri yaitu media kelman's. Tahapan pembuatan media kelman's yaitu dengan menimbang beberapa bahan, diantaranya 10 gram pepton, 10 gram gula, 1 gram casein hidroksilat, dan agar-agar padat 20 gram. Pada pengenceran tersebut kemudian dihitung kedalam cawan petri yang berisi media kelman's, setelah itu diinkubasi pada suhu ruangan selama 24 jam dan dihitung jumlah koloni menggunakan metode TPC dengan satuan CFU.

Prinsip kerja analisis TPC adalah pertumbuhan mikroorganisme setelah diinkubasi dalam media agar pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam, maka mikroorganisme tersebut akan tumbuh berkembang biak dengan membentuk koloni yang dapat langsung dihitung. Jumlah koloni bakteri yang dihitung adalah cawan petri yang mempunyai koloni bakteri antara 30- 300 koloni.

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan gambar. Data yang diperoleh berupa suatu perhitungan untuk menghitung jumlah koloni bakteri pada media alternatif ekstrak cair kedelai, ekstrak cair kacang tanah, ekstrak cair kacang hijau dengan metode uji TPC. Jumlah bakteri yang tumbuh selanjutnya dilakukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

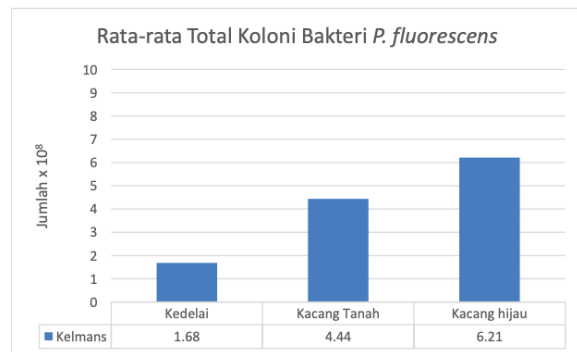
Total koloni (cfu/ml) =

Jumlah koloni x Faktor pengenceran Volume sampel

### Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dengan menggunakan metode TPC hasil-hasil rata-rata koloni bakteri *P. fluorescens*

dapat ditunjukkan melalui grafik 1 yang terdapat dibawah ini:



Grafik 1. Rata-rata Total Koloni Bakteri *P. fluorescens*

Berdasarkan hasil perhitungan TPC rata-rata jumlah koloni bakteri *P. fluorescens* yang didapat pada masing-masing perbanyakan pada media ekstrak kedelai, kacang tanah, dan kacang hijau menunjukkan jumlah 1,68 x 10<sup>8</sup> CFU/ml, 4,44 x 10<sup>8</sup> CFU/ml. dan 6,08 x 10<sup>8</sup> CFU/ml. Berdasarkan hasil rata-rata tersebut sudah sesuai dengan penelitian Rohmah dkk. (2013) yang menyatakan bahwa konsentrasi minimal pemberian bakteri *P. fluorescens* mencapai 10<sup>5</sup>CFU/ml ketika diaplikasikan ke tanaman.

Pada media cair ekstrak kedelai hasil perhitungan rata-rata koloni lebih sedikit karena pada kedelai lebih banyak mengandung protein sebesar 40% dan kandungan lainnya seperti lemak, serta vitamin A, E, K dan beberapa jenis vitamin B dan mineral K, Fe, Zn, dan P. Selain membutuhkan protein sebagai sumber nutrisi, bakteri juga membutuhkan karbohidrat untuk melangsungkan proses metabolisme. Sedangkan karbohidrat yang terdapat pada kedelai sangat sedikit yaitu 3.0 g. Hal ini menyebabkan bakteri kurang efektif terhadap pertumbuhannya pada media cair ekstrak kedelai (Nurwahida & Trisnani Alif, 2022).

Berbeda dengan media cair ekstrak kacang hijau dimana hasil perhitungan jumlah

bakteri yang ditumbuhkan pada media tersebut memiliki jumlah kepadatan yang tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat kesesuaian antara media pembawa dengan pertumbuhan bakteri. Pada kacang hijau memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi sebesar 56,8 g. dan kandungan lainnya seperti protein 22 g, lemak 1,5 g, kalsium 223 mg, zat besi 7,5 mg, fosfor 319 mg, vitamin A, vitamin B, vitamin C, dan air, sehingga pertumbuhan bakteri lebih efektif karena nutrisi yang dibutuhkan bakteri terpenuhi (Hakim dkk, 2021).

## Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa media yang lebih efektif terhadap pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* yaitu media ekstrak cair kacang hijau dengan rata-rata total koloni bakteri *P. fluorescens* menunjukkan jumlah 6,08 x 10<sup>8</sup> CFU/ml.

## Referensi

- Hakim, Tharmizi dkk. (2021). *Manajemen Produksi Kacang Hijau (Vigna Radiata) Memanfaatkan Kompos Dan Air Cucian Ikan*. Bekasi: Dewangga Publishing.
- Hastuti, Desi Putri dkk. (2018). *Pertumbuhan Dan Hasil Kacang Hijau (Vigna Radiata, L.) Pada Beberapa Dosis Pupuk Organik Dan Kerapatan Tanam*. *Journal of Sustainable Agriculture*. 33(2), 89-95.
- Istiqomah dan Dian Eka Kusumawati. (2018). *Pemanfaatan Bacillus Subtilis Dan Pseudomonas Fluorescens Dalam Pengendalian Hayati Ralstonia Solanacearum Penyebab Penyakit Layu Bakteri Pada Tomat*. *Jurnal Agro* 5(1).

- Listiani, Khoirunnisa. (2020). Potensi *Pseudomonas Fluorescens* Sebagai Agen Pupuk Hayati Berbasis Limbah Padat Industri Agar-Agar dan Tepung Ikan. Skripsi. Program Study Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Nurwahidah, Alfi dan Trisnani Alif. (2022). Potensi Air Rebusan Kedelai Sebagai Media Alternatif Perbanyak Bakteri *Pseudomonas Fluorescens* Sebagai Agen Hayati. *Jurnal Matematika & Sains*. Vol. 2 (No. 1), pp. 203-210.
- Pratiwi, Herdina Dkk. (2016). Penekanan Klorosis Dengan *Pseudomonas Fluorescens* Dan Belerang untuk Peningkatan Hasil Kacang Tanah Di Tanah Alkalin. *Buletin Palawija* Vol. 14 No. 1
- Probowati, Wiwit dkk. (2020). Formulasi Pupuk Cair *Pseudomonas Fluorescens* sebagai Agensia Pengendali Hayati Penyakit Mosaik Tanaman Kakao. *Jurnal Ilmu Pertanian Tropika dan Subtropika* 5(2) : 56–60.
- Rohmah, F., Rahayu, Y. S., & Yuliani. (2013). *Trichoderma harzianum* dan Seresah Daun Jati (*Tectona grandis*) untuk Pertumbuhan Tanaman Kedelai pada Media Tanam Tanah Kapur.
- Sari, D., & Rahmawati, A. (2020). Analisa Kandungan Limbah Cair Tempe Air Rebusan dan Air Rendaman Kedelai. 36–41.
- Stefia, Esther Mega. (2017). Analisis Morfologi Dan Struktur Anatomi Tanaman Kedelai (*Glycine Maxl.*) Pada Kondisi Tergenang. Skripsi. Departemen Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi. Surabaya.
- Zulchi, Try dan Husni Puad. (2017). Keragaman Morfologi dan Kandungan Protein Kacang Tanah (*Arachis hypogaea L.*). *Buletin Plasma Nutfah* Vol. 23 No. 2. Hal 91–100.